

肿瘤内异质性解释了非浸润性浆液性肿瘤明显进展为浸润性低级别浆液性癌的原因：基于18例伴有腹膜癌的30个卵巢低级别浆液性肿瘤的研究

Jeffrey D. Seidman, M.D., Johanna Savage, M.D., Jayashree Krishnan, M.D.,
Russell Vang, M.D., and Robert J. Kurman, M.D.

摘要：非浸润性卵巢低级别浆液性肿瘤[不典型增生性浆液性肿瘤 (APST) /浆液性交界性肿瘤]进展为浸润性低级别浆液性癌 (LGSC) 的发生率低, 但仍有发生, 这种现象的潜在生物学机制不清楚。我们研究了 18 例总计 30 个卵巢肿瘤 (12 例为双侧卵巢病灶), 包括 APST、非浸润性 LGSC 和浸润性 LGSC、低级别浆液性癌。我们按照微浸润 (通常为嗜酸性细胞类型)、微浸润性癌 (微乳头浸润灶 $<5\text{mm}$) 和浸润癌 (微乳头巢灶 $\geq 5\text{mm}$) 三种类型进行肿瘤的评估。根据切片的最初数量, 推测标本取材标准, 按肿瘤最大径 1 张或 2 张切片/cm 分组统计。根据肿瘤最大径按照 1 张切片/cm取材时, 在 21 个肿瘤 (70%) 中确定存在浸润病变。在这 21 个肿瘤中, 10 个为微浸润性癌, 11 个为明确的浸润癌。按 2 张切片/cm取材时, 识别出 9 个微浸润癌灶和 14 个浸润癌。随着取材切片数从 1 张切片/cm增加到 2 张切片/cm, 3 个肿瘤的诊断从微浸

润癌变为浸润癌, 另外 2 个肿瘤的诊断从 APST 变为 APST 伴微浸润癌。根据 >2 张切片/cm的取材, 另外 1 例伴微浸润性癌的 APST 的诊断改为浸润癌。这些发现显示在最初的卵巢肿瘤中未发现 (未取到) 隐匿性浸润性病变, 这有可能解释了一些病例由非浸润性低级别浆液性卵巢肿瘤向侵袭性 LGSC 明显进展的原因。为了尽可能减少遗漏隐匿性浸润性病变, 对于非浸润性 LGSC 可能要保证按肿瘤最大径至少取材 2 张切片/cm。嗜酸性细胞性微浸润或微浸润癌, 不论病灶大小, 提示均应进一步取样以确定是否有浸润癌。在本研究中嗜酸性细胞性微浸润病变从未单独出现, 其本身可能不具有生物学意义。

关键词：卵巢, 浆液性肿瘤, 交界性浆液性肿瘤, 低级别浆液性癌, 不典型增生性浆液性肿瘤, 肿瘤取材, 肿瘤进展, 肿瘤异质性, 腹膜种植。

(*Int J Gynecol Pathol*.2020; 39:43–54)

From the Division of Molecular Genetics and Pathology, Office of In Vitro Diagnostics and Radiological Health, Center for Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration, Silver Spring, Maryland (J.D.S.); Departments of Pathology (J.S., R.V., R.J.K.); Gynecology and Obstetrics (R.V., R.J.K.), the Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland; and Department of Pathology and Laboratory Medicine, Washington Hospital Center, Washington, District of Columbia (J.K.).

The opinions and assertions herein are the private views of the authors and do not purport to reflect the position of the US FDA or any other part of the US Government. This work is unrelated to FDA and was not prepared under official government duties.

The authors declare no conflict of interest.

Address correspondence and reprint requests to Jeffrey D. Seidman, MD, Division of Molecular Genetics and Pathology, Office of In Vitro Diagnostics and Radiological Health, Center for Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration, 10903 New Hampshire Ave., Silver Spring, MD 20993. E-mail: jeffrey.seidman@fda.hhs.gov.

癌 变的基本规律之一是癌的进展是一个多步骤的过程, 即最先是原位癌, 接着发生浅表浸润, 然后是更深处浸润, 最后是淋巴/血管侵犯和扩散 (转移)。这个高度复杂的过程要求肿瘤细胞依次穿过多个屏障, 包括基底膜、细胞外基质、血管内皮, 在循环中生存, 最终在远处建立一个有活力的细胞克隆^[1]。但根据这个几乎适用于所有人类癌症的规律, 很难解释一小部分非浸润性卵巢肿瘤, 即所谓的浆液性交界性肿瘤 (SBT), 通常如何在无明显卵巢外病变的情况下, 发展成浸润性癌并在卵巢肿瘤完全切除后发生播散^[2-8]。另一个让人感兴趣的有关肿瘤生物学行为的问题是对于大多数病例而言, 为什么已经确定有微浸润后, 患者预后并未受到不良影响^[3-5,7-9]。自 1973 年世界卫生组织正式命名 SBT 以来, 这些问题困扰了研究人员近半个世纪^[10]。

关于非浸润性卵巢肿瘤的进展一直存在很多争论。有人指出, 试图解释这种相互矛盾的观点会陷入“扭曲的逻辑^[11]”, 并且“卵巢上皮性肿瘤并没有一套独立于特定规则外的生物学行为……即如果未发现存在浸润性病变, 则转移的可能性不大”^[12]。因此, 具有争议的观点是在没有明显的卵巢外疾病的情况下, 肿瘤的播散是由于隐匿性浸润性病变所导致的, 而未能检测到隐匿性浸润病变是由于卵巢肿瘤取材不足所致^[8]。新近存在争议的是: 由于卵巢和输卵管直接与腹膜腔相连, 因此从这些部位发展而来的肿瘤可种植于腹膜上而无需侵犯深部组织^[13]。所以这一特殊部位的肿瘤不同于身体其他部位的肿瘤, 例如浆液性输卵管上皮内癌可以直接种植包括卵巢在内的输卵管外器官, 而输卵管并不首先发生深部的浸润性病变。这种现象导致了高级别浆液性癌迅速播散, 并且这一引起多数卵巢癌患者死亡的肿瘤无法筛查和早期发现^[14]。但是浆液性输卵管上皮内癌是上皮内高级别癌, 而 SBT 的分类为“交界性”, 并且被认为不是明确恶性的肿瘤。尽管存在很多争议, 但现在看来, SBT 确实可以进展为侵袭性 LGSC, 尽管发生率较低, 但仍占一定的比例^[2-7]。新近丹麦一项基于人群的研究中也证实了这一点^[2]。为了确定是否可以用隐匿性浸润区域以及所谓的“微浸润灶”来解释明确的非浸润性卵巢浆液性肿瘤进展为浸润性癌的原因, 我们对伴有腹膜癌的非浸润性和浸润性低级别浆液性肿瘤进行了一项研究。尽管有学者认为: “事实上不可能在大的或甚至中等大的卵巢囊肿中对每个乳头或实性区域进行取材制片……[因此]……隐匿性浸润病变的假说……不能够被佐证”^[11]。但实际上我们已经在一些病例中完成了这一工作。

材料和方法

我们回顾了 1991 至 2013 年 华盛顿医院中心病理与实验医学系的手术病理档案, 并重新复习了所有累及腹膜的低级别浸润性浆液性癌病例。本研究已获得 MedStar 研究所机构审查委员会的批准, 该批准是针对最小风险研究(图表审查和等效方案)的快速批准程序。这些病例中的大多数曾在其他使用该数据库的系列研究中被报道过^[14-16]。临床和大体病理数据来自医疗记录和手术病理报告。所有来自卵巢和卵巢外病变的切片均进行了重新复习阅片。值得注意的是该研究跨度 22 年, 大体病理报告的撰写是由具有不同经验水平的不同取材人员完成的。卵巢肿瘤取材未标准化, 卵巢肿瘤的平均蜡块数为每例 23.6 块(中位数: 17.5 块; 范围: 3~98 块)。最大肿瘤直径的平均蜡块数/cm 为 1.7 块(中位数: 1.2 块; 范围: 0.3~6.3 块)。10 个肿瘤以肿瘤最大径 <1 个切片/cm 取材; 20 个肿瘤

以 ≥1 个切片/cm 取材。在后者中, 10 个肿瘤以 ≥2 个切片/cm 取材。5 个肿瘤灶(来自 4 个病例), 肿瘤全部包埋(分别为第 9、11、13 和 15 号病例)。

根据 2014 年 WHO 对女性生殖器官肿瘤的分类, 浸润性 LGSC 被定义为“是一种具有特定结构呈现低度恶性细胞学不典型性的浸润性癌”。浸润的特征为破坏性生长及特定的结构, 包括: 微乳头、被裂隙包围的小的实性巢、内翻的巨乳头^[18]、筛状结构以及腺性和囊性结构。低度恶性细胞学特征是相对大小一致的小细胞具有高的核质比。核染色质细腻, 通常伴有小而明显的红核仁, 有丝分裂活性低。研究者^[19]通常使用的阈值为核分裂象 <12 个/10 HPF, 但核分裂指数通常较低, 一般为 2~3 个/10HPF。依据我们的经验, 对于模棱两可的病例, 根据细胞不典型性, 和有丝分裂活性几乎可以将 LGSC 与高级别浆液性癌区别开。

2014 年世界卫生组织分类将 SBT 等同于不典型增生性浆液性肿瘤 (APST), 并将微乳头亚型的 SBT 等同于非浸润性低级别浆液性癌 (niLGSC)。因此, 本研究将卵巢肿瘤分为浆液性囊腺瘤、APST 或 niLGSC。根据切片情况评价每个肿瘤的每张切片中出现肿瘤浸润和沙砾体的情况。同时关注骨化, 乳头状梗死^[20]和自身种植^[21]。

2014 年世界卫生组织分类将“微浸润”分为两类: “微浸润灶”和“微浸润癌”, 尽管这种区别仅得到有限的临床结果的支持。“微浸润灶”被定义为位于乳头轴间质内的孤立细胞群和小的细胞簇, 这些细胞具有轻度的核异型性和丰富的嗜酸性细胞质, 典型的病变位于乳头被覆上皮的正下方。几乎没有核分裂活性, 且不出现相关的间质反应。这些间质内具有丰富嗜酸性胞质的细胞与乳头表面上皮是一个群体, 这种出芽状生长常常来自于这些表面上皮。我们将这种病变称为“嗜酸性微浸润”。相反, “微浸润癌”被定义为包含微乳头、被裂隙包围的小的实性巢、内翻巨乳头^[18]、筛状结构、腺体结构, 偶尔还可见囊性结构。细胞形态趋于圆形, 大小均匀, 核质比高, 并显示轻度至中度核的不典型性。通常具有一个小而明显的核仁, 核分裂活性低。是否存在促纤维组织增生并不作为诊断标准。这些细胞类似于浸润性 LGSC。“微浸润灶”或微浸润癌限定条件是, 其病灶最大径不能超过 5mm。本研究中, 我们根据每张切片上最大病灶的大小, 分别将每一切片上的病灶评估分类为嗜酸性微浸润灶和微浸润癌。当微浸润癌灶超过 5mm 时, 它们被称为“浸润性癌”。总之, 我们使用 3 个类别来描述每个切片上病变的浸润类型: 嗜酸性微浸润灶 (<5mm)、微浸润癌 (<5mm) 和明确的浸润性癌 (≥5mm)。当涉及两个卵巢

表1. 临床病理特征和取材范围

年龄(岁)	肿瘤大小(cm)	侧	蜡块数	蜡块数/cm	含MI蜡块数(%)	平均MI灶的大小(mm)	MI灶数目	第一个含MI蜡块号	MI类型	含≥5mm浸润的蜡块数(%)	第一个含≥5mm浸润的蜡块序号	含浸润MI蜡块数(%)	非浸润性成分	
1	73	27	R	27	1	6 (22)	1.9	11	1	E, M	10 (37)	3	16 (59)	APST
		5	L	6	1.2	2 (33)	1.65	6	1	E, M	2 (33)	3	4 (67)	APST
2	73	16	R	5	0.3	1 (20)	0.7	1	5	M	3 (60)	1	4 (80)	niLGSC
		5	L	4	0.8	0	—	—	N	—	0	N	0	APST
3	47	26	R	10	0.4	0	—	—	N	—	0	N	0	niLGSC
		13	L	10	0.8	0	—	—	N	—	0	N	0	niLGSC
4	60	6.8	R	5	0.7	2 (40)	1.9	4	4	M	3 (60)	1	5 (100)	niLGSC
		11	L	5	0.5	0	—	—	N	—	4 (80)	1	4 (80)	—
5	36	12	R	22	1.8	0	—	—	N	—	15 (68)	1	15 (68)	niLGSC
6	63	3	R	7	2.3	1 (14)	2.0	1	4	M	5 (71)	2	6 (86)	niLGSC
		3.5	L	6	1.7	2 (33)	3.1	3	2	M	1 (16)	4	3 (50)	niLGSC
7	72	4.5	R	4	0.9	0	—	—	N	—	4 (100)	1	4 (100)	APST
		3.5	L	5	1.4	0	—	—	N	—	5 (100)	1	5 (100)	—
8	59	13	R	8	0.6	0	—	—	—	—	7 (88)	1	7 (88)	niLGSC
		15	L	10	0.7	0	—	—	—	—	8 (80)	1	8 (80)	niLGSC
9	42	7	L	20	2.9	8 (40)	1.3	15	2	E, M	4 (20)	9	12 (60)	APST
10	61	2.5	R	3	1.2	0	—	—	N	—	0	N	0	APST
11	62	20	R	39	2	13 (33)	0.3	14	1	E, M	0	N	13 (33)	APST
12	66	12	L	14	1.2	2 (14)	0.3	2	5	M	0	N	2 (14)	niLGSC
13	49	17	L	46	2.7	15 (33)	<0.1	58	6	E, M	2 (4)	35	17 (37)	APST
14	59	3.5	R	10	2.9	1 (10)	0.1	1	1	M	1 (10)	7	2 (20)	APST
		9	L	22	2.4	4 (18)	1.8	4	2	M	0	—	4 (18)	APST
15	62	13	R	51	3.9	8 (16)	0.4	11	3	E, M	0	—	8 (16)	APST
		7.5	L	47	6.3	3 (6)	0.4	4	4	E, M	0	—	3 (6)	APST
16	62	3.4	R	4	1.2	0	—	—	—	—	0	—	0	niLGSC
		6.8	L	6	0.9	4 (67)	0.6	18	1	E, M	0	—	4 (67)	APST
17	50	3.5	R	7	2	0	—	—	—	—	0	—	0	腺瘤
		3.5	L	5	1.4	0	—	—	—	—	0	—	0	腺瘤
18	63	2.5	R	10	4	1 (10)	0.1	1	4	M	0	—	1 (10)	APST
		5.5	L	7	1.3	2 (29)	0.2	3	6	E, M	0	—	2 (29)	APST

APST 表示不典型增生性浆液性肿瘤；E，微浸润灶（嗜酸性细胞型）；L，左；M，微浸润癌；MI，微浸润（嗜酸性细胞型）或微浸润癌；N，不适用；niLGSC，非浸润性低级别浆液性癌；R，右。

时，分别记录每个卵巢病灶的数据。保留它们原始切片的顺序，以便参考样本取材的不同层面来进行计算。

各组比较使用 Fisher 精确检验和 Student t 检验。预期进行约 10 次统计比较，使用 Bonferroni 校正后，当 $P < 0.05$ 时，认为差异有统计学意义。

结果

本研究的队列包括 18 例患者的 30 个肿瘤的切片及蜡块，排除 2 例无卵巢受累的病例和 1 例由于钙化严重并且难以将卵巢与网膜肿瘤清楚分离而导致解读困难的病例。患者平均年龄为 59 岁（中位数：62 岁；范围：36~73 岁）。15 例患者为 FIGO III 期（7 例 IIIA 期、1 例 IIIB 期、7 例 IIIC 期），其中 3 例为 IV 期。12 例为双侧肿瘤，6 例为单侧肿瘤。因此，共评估了 30 个卵巢肿瘤。肿瘤平均大小为 9.4 cm（中位数：6.9 cm；范围：2.5~27.0 cm）。

表 1 汇总了包括了评估的显微切片数量的数据，所有 18 例患者的网膜和其他腹膜部位均可见浸润性 LGSC。大多数病例出现沙砾体样钙化，至少在腹膜肿瘤中局灶出现，并且所有病例都存在腹膜输卵管内膜异位。30 个卵巢肿瘤具有异质性表现，肿瘤由浆液性囊腺瘤、APST 和 niLGSC 组成（图 1，2）。仅有一个例外，该例双侧肿瘤只呈现单一的浆液性囊腺瘤表现（病例 17）。在 17 个肿瘤灶中检测到微浸润癌（图 3~5），其中 9 个肿瘤中还含有嗜酸性微浸润灶（图 5，6）。在这 9 个肿瘤中除了 2 个肿瘤是以嗜酸性微浸润为主外（病例 11 和 13），其余均以微浸润癌为主要成分。15 个肿瘤表现为浸润灶直径 ≥ 5 mm（明确浸润性癌）。

在 157 个微浸润性癌或嗜酸性微浸润病灶中，有 150 个（96%）的最大径 < 3 mm，有 7 个（4%）最大径为 3~5 mm。无大于 5 mm 的嗜酸性微浸润灶。具有一个以上 3~5 mm 微浸润灶的所有 4 例微浸润癌患者（1、4、6、9 号病例）切片中均

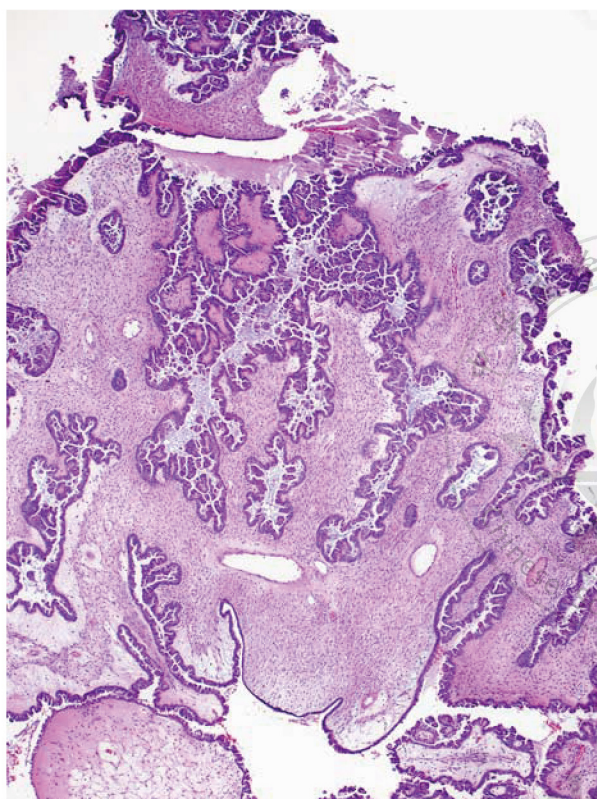


图1. 不典型增生性浆液性肿瘤（浆液性交界性肿瘤）具有逐级分支、丛状生长和脱落的细胞以及小的细胞簇。

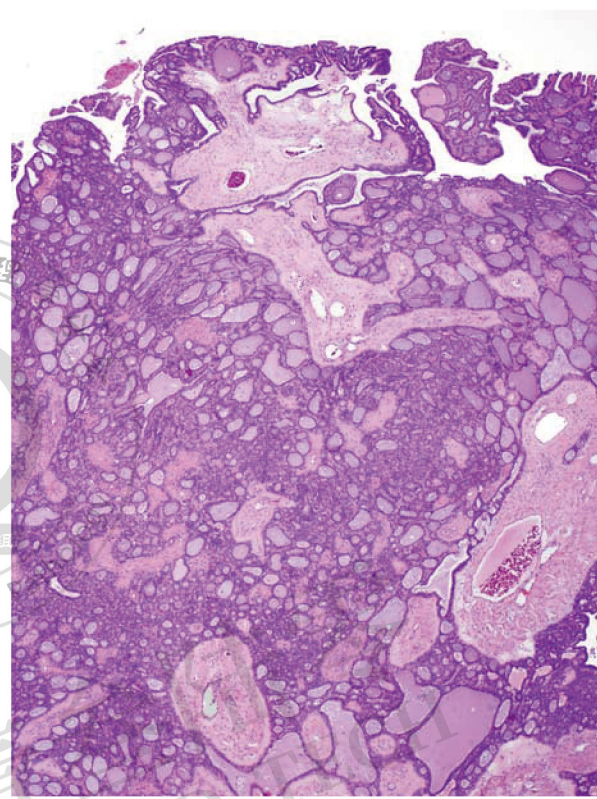


图2. 非浸润性低级别浆液性癌显示在大乳头的表面呈现融合的筛状结构，乳头间质轴心未见浸润。

发现至少一个明确的浸润癌灶。在这 4 个病例中有 1 例（病例 1）还含有 2 个嗜酸性微浸润灶。

表 2 显示假设取材分别按照 1 张切片/cm 和 2 张切片/cm 每个肿瘤的诊断。按照肿瘤最大径，1 张/cm 取材切片，发现 21 个肿瘤（70%）中存在各种类型的浸润病变。在这 21 个肿瘤中，微浸润性癌 10 个（8 个也存在嗜酸性微浸润），11 个明确的浸润性癌。按照 2 张切片/cm 取材，9 个肿瘤发现微浸润性癌（7 个也存在嗜酸性微浸润），14 个肿瘤为明确的浸润性癌。按照这个取材标准，30 个肿瘤中有 23 个存在任何类型的浸润性病变，而且，3 个肿瘤的诊断由微浸润癌改为浸润癌【2 个伴有 APST，1 个伴有 niLGSC（分别为例 6-L，9 和 14R，表 2）】，另外 2 个肿瘤由 APST 改为 APST 伴有微浸润癌（例 18R 和 18L）。按照取材 > 2 个蜡块/cm，1 个病例的诊断由 APST 伴有微浸润癌改为浸润癌（例 13）。因为增加取材数量，而重新分类的这 6 个肿瘤的平均大小为 6.5 cm（平均 4.5 cm，范围 2.5 ~ 17 cm）。

9 个肿瘤同时包含微浸润性癌和明确浸润性癌成分，其中

4 个也含有嗜酸性微浸润。在 6 个肿瘤中，含微浸润性癌或嗜酸性微浸润灶的第一张切片的编号要早于含明确浸润性癌的第一张切片编号。因此，在前序切片中发现嗜酸性微浸润灶或微浸润癌时，预示这些病例中有可能存在明确的浸润性癌。

7 个未被发现有浸润病变的肿瘤平均的切片数为 1.1 张/cm（中位数：1.2 张；范围：0.4~2 张），而发现有浸润性病变的 23 个肿瘤，平均切片数为 1.9 张切片/cm（中位数：1.4 张；范围：0.3~6.3 张）（差异无统计学意义）。11 例显示有非浸润性 LGSC 肿瘤的平均切片数为 1.1，而没有非浸润性 LGSC 的平均切片数为 2.1（差异无统计学意义）。

所有卵巢肿瘤均含有沙砾体样钙化。在含有钙化的切片中，37% 有浸润，而在无钙化的切片中仅有 13% 出现浸润性病变（ $P=0.00097$ ，Fisher 精确检验）。沙砾体也出现在所有大网膜和/或腹膜活检组织的 LGSC 中（图 7）。在一些病例中，沙砾体样钙化非常广泛（图 8）。6 例患者的 6 个肿瘤中出现钙化区域的骨化。乳头状梗死（图 9）通常与自身种植（图 10）相关，它出现在 10 例患者的 14 个肿瘤中。乳头状梗死的 14 个肿瘤

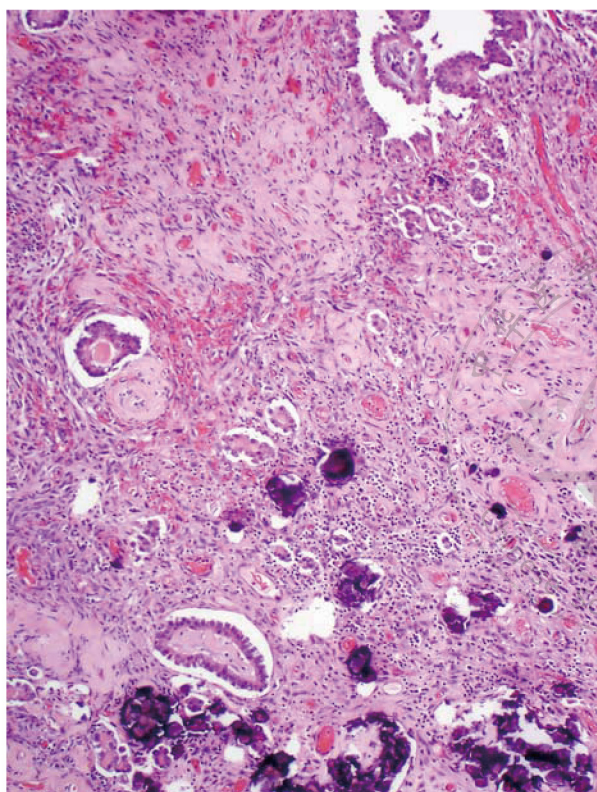


图3. 微浸润癌显示浸润性生长的乳头、实性巢和钙化。

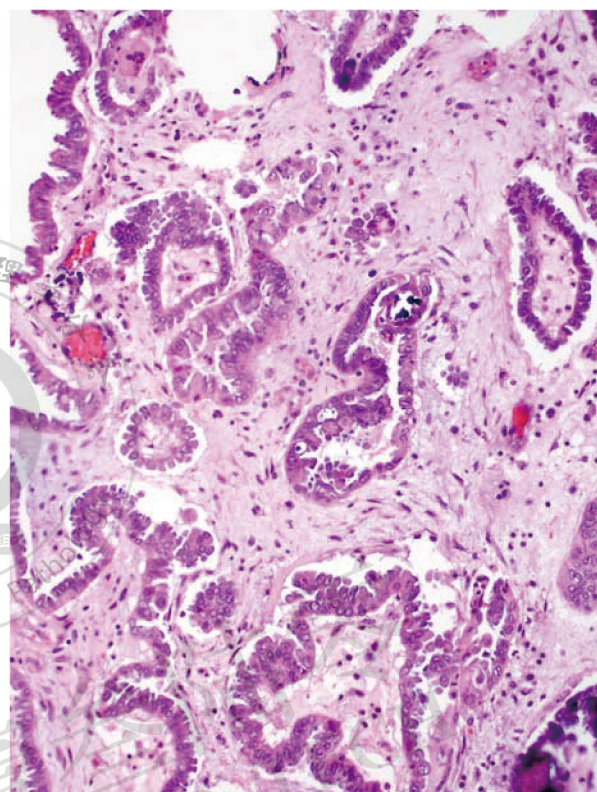


图4. 微浸润癌在浸润的乳头和灶性沙砾体样钙化周围有明显的空隙。

中有 12 个 (86%) 存在浸润, 而无此特征的 16 个肿瘤中有 10 个 (63%) 存在浸润性病变 (差异无统计学意义)。当自身种植与乳头状梗死合并为一组时, 具有这些特征的 17 个肿瘤中有 16 个肿瘤 (94%) 出现浸润。相反, 没有这些特征的 13 个肿瘤中有 7 个 (54%) 存在浸润 (差异无统计学意义)。

总之, 在伴有卵巢外 LGSC 的 30 个卵巢肿瘤中, 有 23 个 (77%) 原发性卵巢肿瘤确定有浸润性病变。在这 23 个肿瘤中, 有 17 个 (74%) 含有微浸润性癌, 有 15 个 (65%) 为浸润性癌 ($\geq 5\text{mm}$)。所有伴有浸润性癌的病例, 在其他切片中也含有微浸润性癌。嗜酸性微浸润灶存在于 9 个肿瘤中, 所有这些肿瘤都伴有微浸润性癌。以肿瘤最大径每厘米取材 1 张切片会在 4 个肿瘤中遗漏浸润性癌, 占有 30 个卵巢肿瘤的 13% 以及最终诊断为癌的 15 个肿瘤的 27%。将取材水平提高到 2 个切片/cm 后, 最终诊断为癌的 15 个卵巢肿瘤中的 14 个 (93%) 被识别出明确的癌。然而, 以这种标准取材, 对于伴有腹膜癌病的肿瘤仅能诊断少量明确的癌 (14/30; 47%)。每个肿瘤中平均有 27% 的组织块含有癌, 这表明即

使出现盆腔/腹膜癌, 大部分原发性卵巢肿瘤的组织块 (73%) 没有浸润性病变出现。

讨论

通过分析一组伴有浸润性 LGSC 累及盆腹腔和远处转移的 STB/APST 和 niLGSC 病例, 本研究对于这些肿瘤的播散和进展为浸润性病变的可能机制提供了重要的见解。仅仅是通过关注那些具有播散性, 且多数已被充分取材的病例, 我们发现了充分取材与 SBT/APST 恶性潜能之间的关系, 尽管我们尚不清楚这些发现是否可以用于 I 期肿瘤。

已经有指南推荐最大径小于 10cm 的交界性肿瘤至少取 1 块/cm, 更大肿瘤取 2 块/cm^[22], 虽然这一推荐仅有非学术的数据支持。我们的研究表明, 按照这个标准取材, 相当一部分浸润性病变可能被漏检。事实上, 按照 1 块/cm 的取材要求, 4 个具有明显浸润 ($\geq 5\text{mm}$ 浸润) 的肿瘤以及另 2 个具有不同程度浸润性病变的肿瘤被漏诊。增加到 2 块/cm 取材后, 15 个肿瘤 (93%) 中 14 个明确浸润性病变被发现, 30 个肿瘤中 23

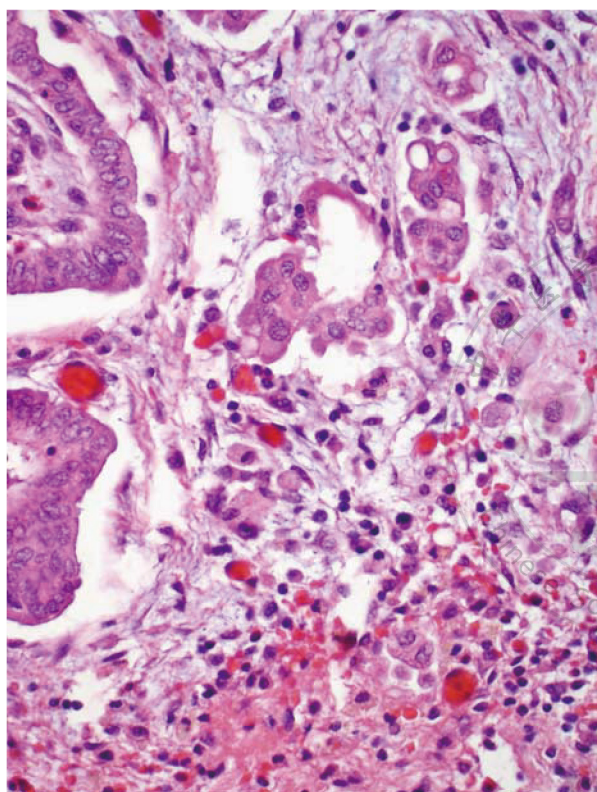


图5. 微浸润癌和嗜酸性微浸润。在微乳头之间散布着嗜酸性细胞和细胞簇。

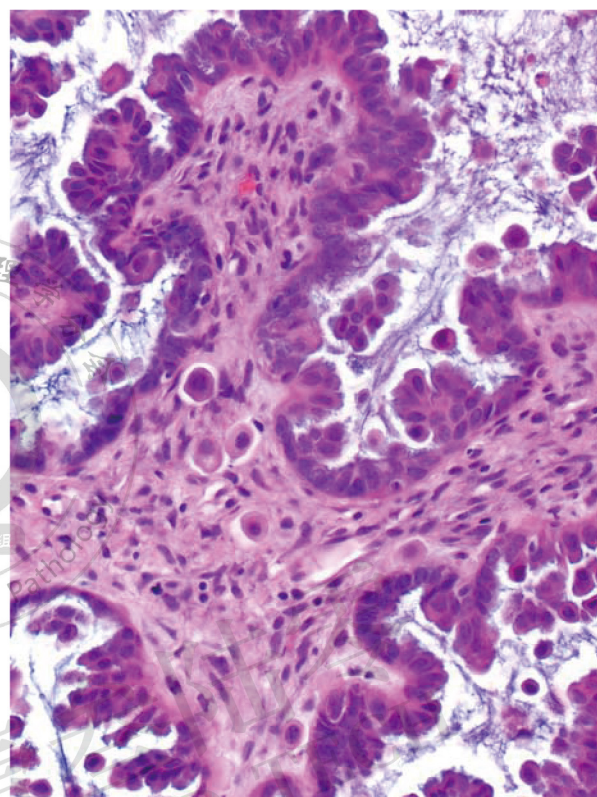


图6. 嗜酸性微浸润灶：在间质中可见单个嗜酸性细胞。

个不同程度的浸润病变被发现。取材 >1 块/cm，改变了30个肿瘤中6个原发肿瘤的诊断（20%）。4例微浸润癌重新分类为明确的浸润性癌，2例APST重新分类为APST伴微浸润癌。6个重新分类肿瘤的平均大小为4.5cm，表明即使为小肿瘤，取1块/cm可能是不充分的。每个肿瘤含有癌的包埋组织块的比例为27%，因此，即使存在盆腹腔癌病原发性卵巢肿瘤，绝大多数（73%）包埋组织块中并没有癌组织。

另一个先前没有被关注的有趣发现是这些肿瘤中钙化的意义。虽然，我们都知道浸润病灶常出现钙化，但并没有重视到含有钙化灶的切片要比不含钙化的切片中发现浸润性病变的比例高，而这是我们发现并提出的。这有可能是一些病例被漏诊浸润的原因。先前报道LGSC中存在钙化区的骨化，以及我们发现1/3病例具有骨化，很有可能反映了一个长期的病变过程，同时由于钙化可能影响了完整的标本取材。本研究中2个病例和另一个因其他相关原因未能进入本研究中的病例（见材料和方法）大体上可见重度钙化区，组织学取材和处理困难，但这3个病例中，多数浸润病灶位于这些重度钙化的区域。

SBT间质中的细胞簇首先由Katzenstein等^[23]描述，以后相继被Tavassoli^[24]、Bell和Scully^[25]报道。他们描述了两种形态学结构：其中一种由小簇细胞和单个细胞组成，细胞具有丰富的嗜酸性胞质，无间质反应；另外一种由实性巢状、微乳头以及筛状聚集的浆液性细胞组成。“微浸润”的名称可用于这两种结构。在两种结构中，前者更常见。我们更倾向将其称为“嗜酸性微浸润”。多个研究证实，这种微浸润（两种类型）与没有微浸润的肿瘤相比，并不具有更差的预后^[8, 26]。正如早期所关注：2014年WHO分类已经将这两种结构分开：保留“微浸润”的术语，用于描述由具有嗜酸性胞质细胞组成的病变；而“微浸润癌”术语，则用于描述由实性巢状、微乳头和筛状结构聚集的病变。目前的研究显示，这两种结构联合出现在APST含有微浸润病变的比例为25%~27%^[20, 27, 28]，并且以嗜酸性结构为主。在一个针对微浸润病变的大宗研究中发现，82%病例可以出现嗜酸性微浸润结构^[6]。

在本研究中，我们发现所有具有明确浸润癌（ ≥ 5 mm）的病例，在其他切片中可以出现微浸润性癌。相反，嗜酸性微浸

表1. 假设根据肿瘤最大径以1和2个切片/cm取材的情况下对每灶卵巢肿瘤的诊断

病例号/侧	以1张切片/cm取材的诊断	以2张切片/cm取材的诊断	对所有切片重新评价的最终诊断
1-R	LGSC	—	LGSC
1-L	LGSC	LGSC	LGSC
2-R	LGSC	—	LGSC
2-L	APST	—	APST
3-R	niLGSC	—	niLGSC
3-L	niLGSC	—	niLGSC
4-R	LGSC	—	LGSC
4-L	LGSC	—	LGSC
5	LGSC	LGSC	LGSC
6-R	LGSC	LGSC	LGSC
6-L	niLGSC+微浸润癌	LGSC	LGSC
7-R	LGSC	—	LGSC
7-L	LGSC	LGSC	LGSC
8-R	LGSC	—	LGSC
8-L	LGSC	—	LGSC
9	APST+微浸润癌	LGSC	LGSC
10	APST	APST	APST
11	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA
12	niLGSC+微浸润CA	niLGSC+微浸润CA	niLGSC+微浸润CA
13	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA	LGSC
14-R	APST+微浸润CA	LGSC	LGSC
14-L	APST+微浸润CA	APST微浸润CA	APST+微浸润CA
15-R	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA
15-L	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA
16-R	niLGSC	niLGSC	niLGSC
16-L	APST+微浸润CA	—	APST+微浸润CA
17-R	浆液性囊腺瘤	浆液性囊腺瘤	浆液性囊腺瘤
17-L	浆液性囊腺瘤	浆液性囊腺瘤	浆液性囊腺瘤
18-R	APST	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA
18-L	APST	APST+微浸润CA	APST+微浸润CA

粗体字的诊断表明诊断有所改变。如果取材未达到指定水平，则不会显示诊断结论。APST 表示不典型增生性浆液性肿瘤；CA，癌；L，左；LGSC，浸润性低级别浆液性癌；niLGSC，非浸润性低级别浆液性癌；R，右。

并不常见，仅见于9个肿瘤，并且这9个肿瘤都伴有微浸润性癌；而无病例单独存在嗜酸性微浸润。我们发现微浸润性癌要较嗜酸性微浸润更常出现广泛播散性癌，而嗜酸性微浸润本身并不出现播散性癌，提示微浸润性癌与浸润癌具有明确的生物学相关性。在一项近期研究中，Maniar等^[29]报道，与衬覆在乳头表面的浆液性细胞相比较，组成微浸润的嗜酸性细胞对ER、PR、WT1和Ki-67呈现低表达，这一发现提示：这些细胞是静止细胞或终末分化的细胞，并且一些细胞正在发生凋亡，而不是一种早期浸润癌的表现。嗜酸性细胞从不出现在明确浸润癌中的事实支持了这一观点。在另一项研究中，Zeppernick等^[30]检测了APST中KRAS和BRAF的突变情况，发现这些具有嗜酸性细胞的病变，无论伴有或不伴有微浸润癌，都具有BRAF突变，而无KRAS的突变。Tsang和他同事的研究中发现一个令人迷惑的问题，相对于那些具有BRAF突变的病例，具有KRAS突变的APST更有可能复发成

LGSC。在Gershenson等^[32]的研究中发现，具有BRAF突变的LGSC与具有KRAS野生型的肿瘤相比较具有更好的预后，并且BRAF突变情况间接证实我们的观点：微浸润中的嗜酸性细胞实际上都出现在具有BRAF突变的肿瘤，与浸润癌并不相关。

嗜酸性细胞浸润也可以与微浸润性癌同时出现，表明他们之间具有相关性。被覆在APST乳头表面的上皮细胞有可能陷入间质轴心，具有2种可能的结局：(1)以沉默/凋亡的嗜酸性细胞形式出现，不具有任何其他生物学行为；(2)形成真性浸润的微浸润性癌并且具有转移潜能。在本研究中，4个肿瘤增加取材数量后，重新被分类为明确浸润性癌，而这4个肿瘤在最初的切片中，均出现微浸润性癌，其中2个肿瘤为嗜酸性微浸润。因此，对于病理医师来讲，出现微浸润癌和嗜酸性微浸润提醒我们应该进一步增加取材。30个肿瘤中，9个(30%)发现嗜酸性微浸润，与之相应的是我们先前的研究和其他报道^[20, 26, 2]，在不伴有浸润性LGSC的APST病例中，25%~27%

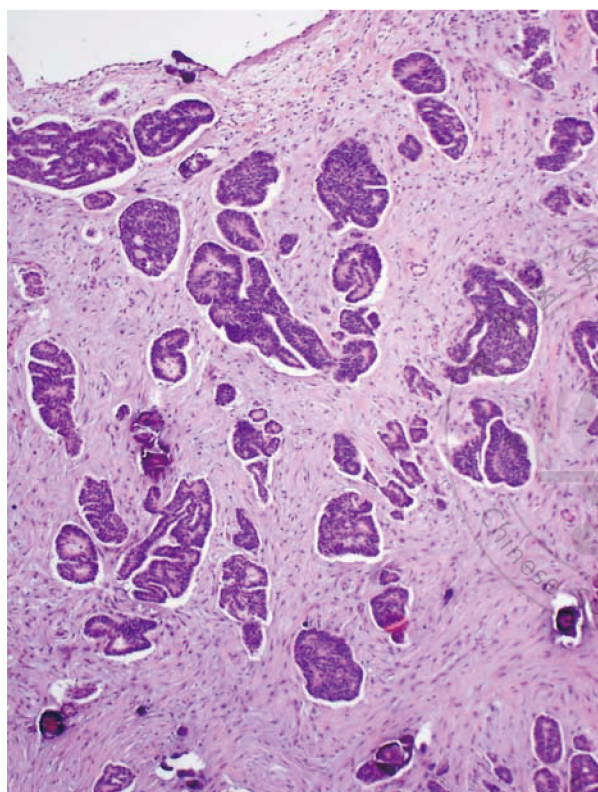


图7. 浸润性低级别浆液性癌浸润大网膜。

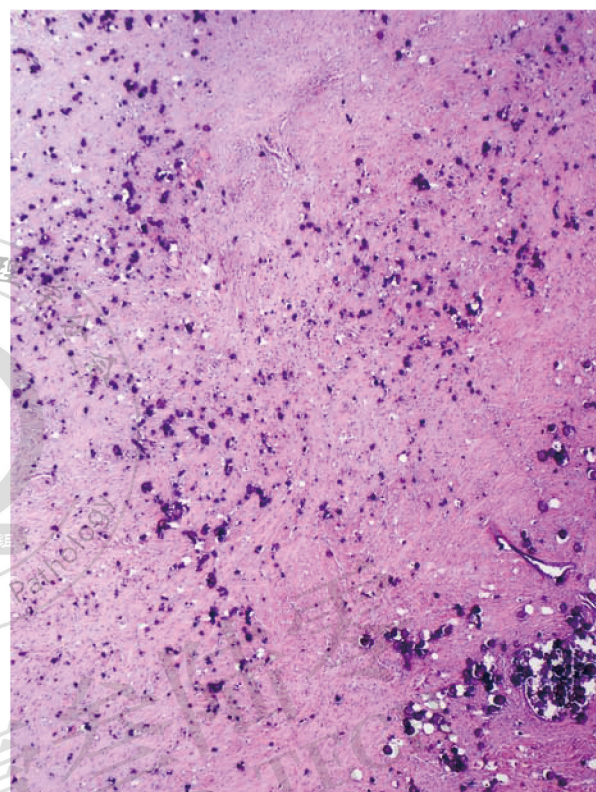


图8. 浸润性低级别浆液性癌，沙砾体癌变异型，在浸润巢和乳头中存在丰富的沙砾体样钙化。

的肿瘤中存在嗜酸性微浸润。与之相反，在本研究中，30个伴有LGSC的肿瘤中，17个肿瘤（57%）出现微浸润性癌，而在我们先前的系列研究中，在相同人群中不伴有LGSC的26例患者中有5个具有微浸润癌（ $P=0.0038$ ），这一结果进一步支持微浸润癌是一种具有生物学和临床意义的生长模式，反映了肿瘤向低度恶性浆液性肿瘤转化。

另外一个具有争议的问题是微浸润和微浸润性癌大小的界定，尽管5mm是目前接受最广泛的界定微浸润和微浸润癌的标准^[22]，但2mm、3mm和10sq/mm也被使用。在本研究中，所有具有大小为3~4.9mm单灶或多灶微浸润癌的肿瘤中至少有1灶为明确浸润性癌，因此3mm还是5mm的标准，在本研究中并没有临床意义。此外，所有嗜酸性微浸润灶和微浸润癌中，96%的病灶小于3mm，并且在我们先前不伴有癌病的APST的研究系列中，几乎所有的微浸润灶都小于3mm^[20]。

我们的发现支持LGSC是由niLGSC（SBT，微乳头亚型）而来的发病机制，因为本研究中30个肿瘤中11个（37%）具有niLGSC，而相比较在一项较大人群系列的研究中纯粹的

APST中niLGSC仅占8%^[8]。此外，niLGSC的细胞形态也与浸润性LGSC更为相近。

由于APST被定义为交界性肿瘤，有关APST播散的问题一直困扰着研究者，本项研究提供了一些可能性的解释。虽然非常罕见，已经有报道IA期的APST出现复发，可以是非浸润性癌，也可以进展为浸润性LGSC^[2-8, 33]。本研究的数据显示大部分伴有转移性LGSC的非浸润性浆液性肿瘤，通过取材可以发现真正的浸润性病灶；因此，以往报道的APST出现转移的研究，包括那些按照先前推荐的方法取材1块/cm肿瘤，可能遗漏了浸润性病灶。即使浸润灶小于3mm，也有转移的潜能和致命的结果^[26]。在缺乏浸润性病灶时，一种解释可能发生转移的原因是：外生性肿瘤的细胞脱落种植在腹膜表面，最终发生恶性转化。对于充分取材的非浸润性肿瘤，其转移机制除了细胞脱落所致外，其他可能的机制包括：非浸润种植的进展、浸润性种植未取到、输卵管内膜异位的进展、或是来源于卵巢或输卵管的一种新的原发癌。相对于因没有取到浸润性病灶而导致隐匿性病灶未被检出，上述的这些推测中浸润性病变

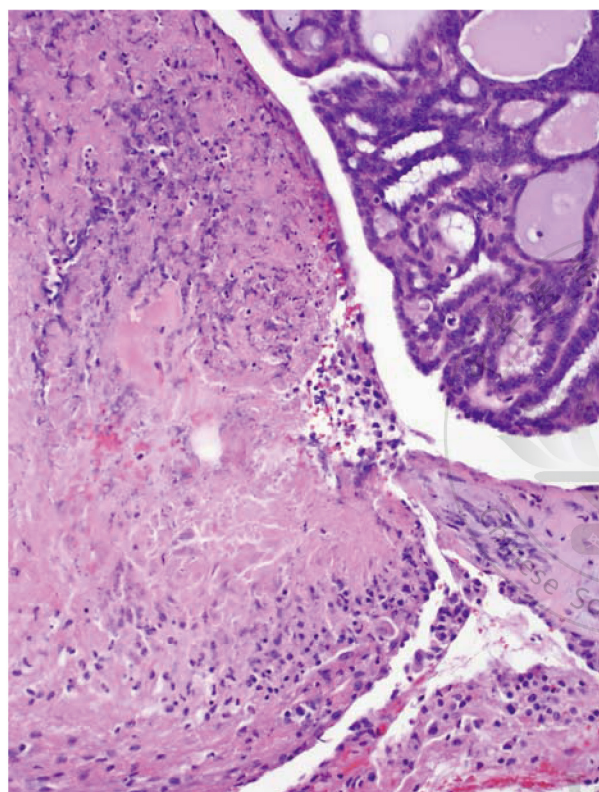


图9. 梗死的乳头呈现凝固性坏死。

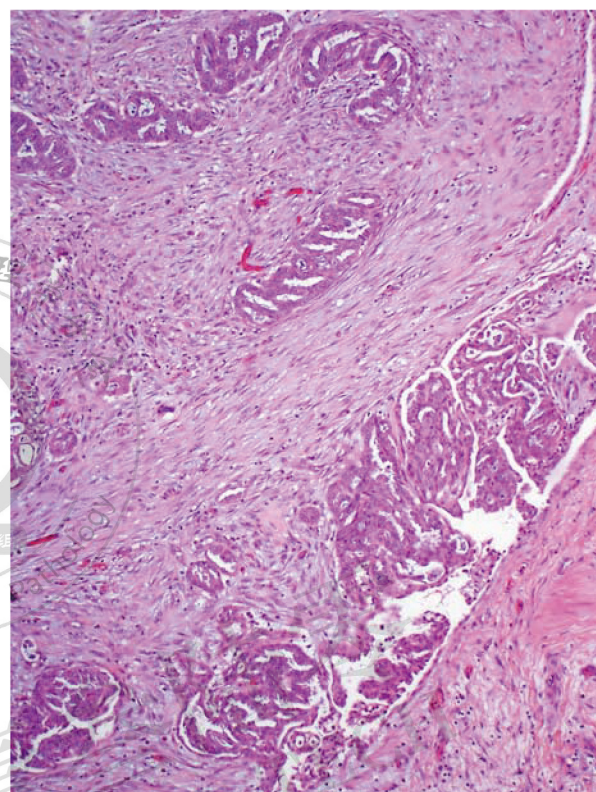


图10. 自身种植呈现在纤维母细胞性间质中腺体的网状外观，这与不典型增生性浆液性肿瘤的非浸润性促结缔组织增生性种植相一致。

的播散方式较为少见。

总而言之，这项研究提供了一些可能的答案，可用于回答定义为被分类为“交界性”卵巢浆液性肿瘤的诊断及生物学行为的问题，而这一肿瘤的生物学行为历史上被认为是介于良恶性之间。特别是，由于仅有轻度细胞异型性，提示其具有良性的行为，但是这些肿瘤有时可以复发，有时可以进展为癌，可伴有致命性的预后。本研究提供的证据显示，即使按照先前发布的规范取材方式，转移也可能常常来自肿瘤中的隐匿性浸润癌。与之相似的是，当IA期的APST被完全切除，甚至进行了分期手术，并且没有发现腹膜病变或是仅有非浸润种植时，很有可能存在隐匿性癌，这可能是肿瘤复发成为浸润性LGSC的原因。这种复发推测可能是发生了隐匿性微转移。

本研究也阐述了嗜酸性微浸润和微浸润癌的一些问题，嗜酸性微浸润可能仅仅是一个与真正浸润病变相关的标志物，并不是一个肿瘤浸润的真实过程，而任何数量的真性浸润病变都具有引起转移的潜能。最后，本研究的发现间接支持浸润性LGSC是由APST (SBT) 向niLGSC (SBT, 微乳头亚型) 进

展而来的观点。

我们认识到这只是一个相对小的研究，特别是我们仅研究了进展期的病例，回顾性研究和缺乏统一的病例处理方式使本研究很难得出一个肯定的结论。因此，对于制定针对这些肿瘤的处理方式和报告的推荐方案，我们尚在考虑中。尽管如此，我们的发现仍很重要，相信对于更为精确的评估病理和预测预后具有潜在的价值，目前，我们制定以下初步推荐方案：首先，当肿瘤按照至少2块/cm取材时（仅有1个肿瘤从2块/cm增加到大于2块/cm后被重新分类）多数浸润性癌可以诊断，因此，应当考虑取材至少2块/cm，特别对于没有进行手术分期的病例；第二，大体上的钙化病灶应脱钙取材，因为它们可能伴有真正的浸润；第三，不需要对嗜酸性微浸润进行测量，但当其出现时，应进一步增加取材。由于它的存在不影响预后，因此在报告中无需作为诊断的关键指标。最后，与嗜酸性微浸润不同，微浸润癌则具有非同寻常的意义，在我们的研究中，具有微浸润癌的4个肿瘤（病例6, 9, 13, 14）和3个病例（病例9, 13, 14），在后续的更多取材中发现了有明确的浸润性

癌,提示小于5mm病灶的识别也具有临床意义,它可能影响临床处理。这一结论也被近期的一项研究所支持,该研究报道2例LGSC,伴有小于3mm(微浸润癌)的癌,并发生死亡^[34]。因此,识别微浸润性癌,无论其大小,在未分期的病例,都应考虑探查和行分期手术。当然,“微浸润”的术语具有潜在的误导性,因为它可能暗示临床医师,这个肿瘤具有相对良性的预后,我们相信,无论这种病变的数量是多少,当分类为浸润性LGSC时都需提高警惕。

总之,我们的发现所提供的证据有助于解释“交界”名称的困惑,特别是APST具有低度恶性生物学行为。这种生物学行为可能具有各种不同的发生机制,但大多数是由于未检出真正的浸润灶所致。由于存在隐匿性微浸润癌、细胞脱落、腹膜表面的非浸润癌种植,定义为niLGSC(SBT,微乳头亚型)的肿瘤具有很高的恶性生物学风险,并且这一行为与浸润种植(LGSC)密切相关。这些方面促使我们更愿意使用“不典型增生性浆液性肿瘤”,“非浸润性LGSC”和“浸润性LGSC”名称,并且后者替代了“浸润性种植”的名称,这样的命名方案正是2004年交界性肿瘤工作组^[22]和2014年女性生殖器官肿瘤分类^[17]所推荐的。

参考文献

- Talmadge JE, Fidler IJ. AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res* 2010; 70:5649–69.
- Hannibal CG, Vang R, Junge J, et al. A nationwide study of ovarian serous borderline tumors in Denmark 1978–2002. Risk of recurrence, and development of ovarian serous carcinoma. *Gynecol Oncol* 2017; 144:174–80.
- Boyratz G, Salman MC, Gultekin M, et al. What is the impact of stromal microinvasion on oncologic outcomes in borderline ovarian tumors? A multicenter case-control study. *Arch Gynecol Obstet* 2017; 296:979–87.
- Du Bois A, Ewald-Riegler N, de Gregorio N, et al. Borderline tumours of the ovary: a cohort study of the Arbeitsgemeinschaft Gynakologische Onkologie (AGO) study group. *Eur J Cancer* 2013; 49:1905–14.
- Sobiczewski P, Kupryjanczyk J, Michalski W, et al. The evaluation of risk factors associated with relapse and recurrence of borderline ovarian tumors with long-term follow-up. *Int J Gynecol Cancer* 2016; 26:1053–61.
- Uzan C, Zanini-Grandon A, Bentivegna E, et al. Outcome of patients with advanced-stage borderline ovarian tumors after a first peritoneal noninvasive recurrence: impact on further management. *Int J Gynecol Cancer* 2015; 25:830–6.
- Vang R, Hannibal CG, Junge J, et al. Long-term behavior of serous borderline tumors subdivided into atypical proliferative tumors and noninvasive low-grade carcinomas: a population based clinicopathologic study of 942 cases. *Am J Surg Pathol* 2017; 41:725–37.
- Seidman JD, Kurman RJ. Ovarian serous borderline tumors: a critical review of the literature with emphasis on prognostic indicators. *Hum Pathol* 2000; 31:539–57.
- Sangoi AR, McKenney JK, Dadrass SS, et al. Lymphatic vascular invasion in ovarian serous tumors of low malignant potential with stromal microinvasion: a case control study. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:261–8.
- Serov SF, Scully RE, Sobin LH. Histologic typing of ovarian tumors. In: Sobin LH, ed. *International Histological Classification and Staging of Tumours: No 9*. Geneva: World Health Organization; 1973:17–38.
- Russell P. Borderline epithelial tumours of the ovary: a conceptual dilemma. *Clin Obstet Gynaecol* 1984; 11:259–77.
- Lauchlan SC. Non-invasive ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 1990; 9:158–69.
- Kurman RJ, Shih IM. The dualistic model of ovarian carcinogenesis: revisited, revised and expanded. *Am J Pathol* 2016; 186: 733–47.
- Seidman JD, Vang R, Ronnett BM, et al. Distribution and case-fatality ratios by cell-type for ovarian carcinomas: a 22-year series of 562 patients with uniform current histological classification. *Gynecol Oncol* 2015; 136:336–40.
- Seidman JD, Yemelyanova A, Cosin JA, et al. Survival rates for FIGO stage III ovarian carcinoma by cell type: a study of 262 unselected patients with uniform pathologic review. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22:367–71.
- Seidman JD, Horkayne-Szakaly I, Cosin JA, et al. Testing of two binary grading systems for FIGO stage III serous carcinoma of the ovary and peritoneum. *Gynecol Oncol* 2006; 103:703–8.
- Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, et al. *WHO Classification of Tumours of the Female Reproductive Organs*. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.
- Yemelyanova A, Mao TL, Nakayama N, et al. Low

- grade serous carcinoma of the ovary displaying a macropapillary pattern of invasion. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:1800–6.
19. Malpica A, Deavers MT, Lu K, et al. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J Surg Pathol* 2004; 28:496–504.
 20. Kraus JA, Seidman JD. The relationship between papillary infarction and microinvasion in ovarian atypical proliferative (“borderline”) serous and seromucinous tumors. *Int J Gynecol Pathol* 2010; 29:303–9.
 21. Rollins SE, Young RH, Bell DA. Autoimplants in serous borderline tumors of the ovary: a clinicopathologic study of 30 cases of a process to be distinguished from serous adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2006; 30:457–62.
 22. Seidman JD, Soslow RA, Vang R, et al. Borderline ovarian tumors: diverse contemporary viewpoints on terminology and diagnostic criteria with illustrative images. *Hum Pathol* 2004; 35:918–33.
 23. Katzenstein AL, Mazur MT, Morgan TE, et al. Proliferative serous tumors of the ovary: histologic features and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1978; 2:339–55.
 24. Tavassoli FA. Serous tumor of low malignant potential with early stromal invasion (serous LMP with microinvasion). *Modern Pathol* 1988; 1:407–14.
 25. Bell DA, Scully RE. Ovarian serous borderline tumors with stromal microinvasion: a report of 21 cases. *Hum Pathol* 1990;21: 397–403.
 26. McKenney JK, Balzer BL, Longacre TA. Patterns of stromal invasion in ovarian serous tumors of low malignant potential (borderline tumors): a reevaluation of the concept of stromal microinvasion. *Am J Surg Pathol* 2006; 30:1209–21.
 27. Hogg R, Scurry J, Kim S-N, et al. Microinvasion links ovarian serous borderline tumor and grade 1 invasive carcinoma. *Gynecol Oncol* 2007; 106:44–51.
 28. Morice P, Camatte S, Rey A, et al. Prognostic factors for patients with advanced stage serous borderline tumours of the ovary. *Ann Oncol* 2003; 14:592–8.
 29. Maniar KP, Wang Y, Visvanathan K, et al. Evaluation of microinvasion and lymph node involvement in ovarian serous borderline/atypical proliferative serous tumors: a morphologic and immunohistochemical analysis of 37 cases. *Am J Surg Pathol* 2014; 38:743–55.
 30. Zeppernick F, Ardighieri L, Hannibal CG, et al. BRAF mutation is associated with a specific cell type with features suggestive of senescence in ovarian serous borderline (atypical proliferative) tumors. *Am J Surg Pathol* 2014; 38:1603–11.
 31. Tsang YT, Deavers MT, Sun CC, et al. KRAS (but not BRAF) mutations in ovarian serous borderline tumour are associated with recurrent low-grade serous carcinoma. *J Pathol* 2013; 231:449–56.
 32. Gershenson DM, Sun CC, Wong KK. Impact of mutational status on survival in low grade serous carcinoma of the ovary or peritoneum. *Br J Cancer* 2015; 113:1254–8.
 33. Longacre TA, McKenney JK, Taselaar HD, et al. Ovarian serous tumors of low malignant potential (borderline tumors): outcome-based study of 276 patients with long-term (>5 year) follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005; 29:707–23.
 34. Ahn G, Folkins AK, McKenney JK, et al. Low-grade serous carcinoma of the ovary: clinicopathologic analysis of 52 cases and identification of a possible noninvasive intermediate lesion. *Am J Surg Pathol* 2016; 40:1165–76.

(张丽华 翻译 沈丹华 审校)